

⑩日本国特許庁(JP)

⑪特許出願公開

⑫公開特許公報 (A)

昭54—41191

⑬Int. Cl.²

G 01 N 27/30

G 01 N 33/16

識別記号

⑭日本分類

113 D 13

113 E 6

94 A 154

庁内整理番号

7363—2G

6656—2G

⑮公開 昭和54年(1979)4月2日

発明の数 1

審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑯グルコース・酸素感応電極

地 株式会社立石ライフサイエ
ンス研究所内

⑰特 願 昭52—108110

⑱出 願 人 立石電機株式会社

⑲出 願 昭52(1977)9月8日

京都市右京区花園土堂町10番地

⑳発 明 者 高原秀明

㉑代 理 人 弁理士 和田成則

京都市右京区花園中御門町3番

明 細 書

1. 発明の名称

グルコース・酸素感応電極

2. 特許請求の範囲

一対の感応電極を備えた電極本体の側面に上記各感応電極のそれぞれに対して一つの感応部を設け、この感応部を含む電極本体の先端部をガス透過性のチューブ状隔膜で被覆するとともに、この隔膜の外表面をグルコース透過性の膜で被覆し、かつこの膜の上記一方の感応電極に設けられた感応部と対向する位置にのみグルコースオキシダーゼを固定化してなるグルコース・酸素感応電極。

3. 発明の詳細な説明

この発明は生体の血管などに挿入することによつて、生体の血液や体液中に含まれるグルコースを直接測定できるようにした極めて小形化されたグルコース・酸素感応電極に関するものである。

臨床分析においてグルコース濃度を測定する方法の一つに、電極本体の先端にグルコースオキシダーゼを固定化してなる固定化酵素膜を冠し、こ

のグルコースオキシダーゼの酵素作用により試料中に含まれるグルコースを酸化し、これによつて消費される水溶液溶存酸素の量を電極本体で検出することによりグルコース量を測定する方法が開発されている。その公知例として、米国特許第3,542,662号明細書には酸素感応器の電極先端に固定化酵素膜を冠したものが開示されている。上記酸素感応器は、ガラス毛细管中に封止された一対のカソードと、このカソードの周囲に巻回された両者共通のアノードと、この各カソード及びアノードの周囲を包囲するハウジングとからなり、上記カソード及びアノードの突出先端部を固定するとともに、この先端部をプラスチック製の隔膜で封止し、ハウジング内に電解質を封入して構成したものである。

このように構成された酸素感応器には固定化酵素膜が冠せられるが、この固定化酵素膜の構成としては、ハウジング周囲にキャップを設け、このキャップの開口部にナイロンネットを冠し、このネットの各カソードと対向する位置に小孔を設け、

一方の小孔にグルコースオキシダーゼを含むポリアクリルアミドマトリックスを支持させたもので、他方の小孔にはグルコースオキシダーゼを含まないポリアクリルアミドゲルを支持させてある。

従つて一方のカソードには上記グルコースオキシダーゼの酵素作用によつて反応した残りの酸素量が検出され、他方のカソードには初期酸素量が検出され、異なる測定値を読み取ることができるとともに、酸素の減少量とグルコース量は特定の比例関係にあるから、この各酸素濃度の差を取ることによつて試料中のグルコース量を知ることができる。本発明はこのような測定原理に基づくグルコース、酸素感応電極を提供するもので、その電極を極めて小さな径に形成することにより、これを生体の血管内に挿入し、血液中のグルコース量を直接測定できるようにしたものである。

すなわち上記のような酵素電極にあつては隔膜の選択透過作用および酵素作用により測定しようとする物質のみを選択的に検出できるため、上記酵素電極を血管内に挿入するだけでその濃度を直

シダーゼを固定化してなるもので、上記構成により、電極の径を小径化でき、従来のいずれの電極よりも小形で、生体を損傷することなく生体の血管中に挿入して生体内に含まれるグルコース濃度を直接測定することができるようにしたグルコース・酸素感応電極を提供するものである。

以下この発明の一実施例を図面を用いて詳細に説明する。

第1図において、グルコース酸素感応電極1はいわゆるクラーク型の測定電極であつて、この電極1は、一对の感応電極（以下カソードと称する）2、3、およびこの各カソード共通の参照電極（以下アノードと称する）4によつて構成される電極本体5と、この電極本体5の先端部外周を被覆する一端封止されたチューブ状酸素透過性隔膜6と、この隔膜6の外表面を被覆する固定化酵素膜7と、上記酸素透過性膜6と電極本体5間のスペース8に封入された電解液とからなる。

上記各カソード2、3は夫々直径が10μの白金線からなるもので、この各白金線の先端部外周

接測定できる。そして、この方法を実施するには上記酵素電極を注射針等の容器内に収容できる位の小さな径に形成することによつて達成されるが、従来この種の電極はその先端が感応面となつてゐるためこの電極を極めて小さな径とした場合、先端に酵素膜を設けることは困難であり、特に上述するような複数の電極を設けた酵素電極にあつては、各電極間の絶縁、電解液の封入、隔膜、および酵素の固定などの各点においてその製作が極めて困難で小径化に限度があるため、実用化には至つていないのが現状である。

この発明は上記のような技術課題を克服するためになされたものであつて、その要旨とするところは、一对の感応電極を備えた電極本体の側面に上記感応電極のそれぞれに対して一つの感応部を設け、この感応部を含む電極本体の先端部をガス透過性のチューブ状隔膜で被覆するとともに、この隔膜の外表面をグルコース透過性の膜で被覆し、かつこの膜の上記一方の感応電極に設けられた一方の感応部と対向する位置にのみグルコースオキ

素にはポリエステルからなる絶縁層9が形成されている。

この絶縁層9は、上記白金線の先端より3cmまでをポリエステルワニスにデイツピングし、硬化させることによつて得る。なおこの絶縁層の厚みは硬化時に直径30μとなるようにコントロールされる。

この各カソード2、3はピッチが1mmとなるようより合わされ、その各他端側に位置する白金線引出部分をそれぞれカソード引出線10、11として導出し、図示しない測定機器に接続するようにしている。

またアノード引出線12は直径30μの銀線よりなるもので、この銀線的一端を上記絶縁層9の一端側（カソード引出線側）に巻回係止し、他端側を上記と同様測定機器に接続するようにしている。

上記アノード4は絶縁層9の外周に銀を真空蒸着し、この蒸着層外周に更に銀メッキを施すことにより得る。この段階でアノード引出線12はア

ノード4の銀層に被覆され、これと導通する状態になる。

なお、上記アノード4の厚みはその径が90μ程度となるようにコントロールされる。

更に上記アノード4の表面には塩化銀層13が形成される。この塩化銀層13の成形方法としては、アノード4となる銀層を0.05N-HCl溶液中に浸漬し、これを電気分解すれば銀表面より塩化銀が析出し、これが全体を被覆する。

このように構成された電極本体5には夫々第1の感応部14および第2の感応部15が設けられる。上記各感応部の形成方法としては、例えば幅100μ、深さ70μの溝を有する銅板などからなる治具の溝内に上記のように構成された電極本体5を挿入し、これを幅0.5mm程度カッターで切欠けば、この切欠深さは治具の表面のみに規制されるため、アノード4および絶縁層9の断面が露出するとともに各カソード2、3は側面のみが露出し、これが各感応部14、15となる。なお、第1の感応部14は一方のカソード2の最先端よ

り1mmの位置に、また第2の感応部15はこれより1mm離れた位置で他方のカソード3の側面を露出させることにより得る。

また上記酸素透過性隔膜6は、その製法として例えばキャスティング法、エキストルージョン法、カレンダー法等によつて得られたチューブ状のもので、上記電極本体5を挿入することによつて、これを收容し、かつその先端開口部を熱融着、或いは同一樹脂によつて封止したものであるが、この隔膜6の製法の1例を以下に詳細に説明する。

上記電極本体5の外径に適合して直径110μのナイロン糸を酸素透過性ポリマーの溶液、例えばテトラヒドロフラン中に溶解した10%ポリスチレン溶液にデツピングしてその直径が140μになるようポリスチレンをコーティングし、硬化させた後これをメタノール-塩化カルシウム液中に浸漬すれば、溶解度差によりナイロン糸のみ溶液中に溶解される結果、内径110μ、外径140μの酸素透過性ポリスチレンチューブを得る。

このチューブ状隔膜6に電極本体5の先端を挿

入し、この電極本体5より0.5mm先端位置で隔膜6をカットし、これを電解液となる塩化カリウム溶液の中に浸漬すれば、上記電解液は隔膜6の毛管現象により、スペース8内に満される。この後、隔膜6の開口部に口紙を軽くあてて電解液を収取り、この部分にポリスチレン溶液を付着して硬化させれば内部が封止される。

更に上記固定化酵素膜7はグルコースなどの基質透過性半透膜、例えばポリアクリルアミドゲルなどの半透膜の先端部において上記第1の感応部14と対向する位置にグルコースオキシダーゼ層16(図に点で示す部分)を固定化してなるものであるが、この固定化酵素膜7の製法の1例を以下に詳細に説明する。

上記のように隔膜6の先端を封じた状態の電極をジメチルホルムアミドに溶解したポリアクリロニトリルの10%溶液の中に浸漬し、引上げた後すぐにこれを水中に浸漬すれば、ジメチルホルムアミドが揮散する結果、隔膜6の表面にゲル化した多孔質ポリアクリロニトリルの膜が形成される。

他方グルコースオキシダーゼ50mgをpH5のリン酸緩衝液1ml中に溶解しておき、この溶液中に上記の工程で得られた電極をその先端から1.5mmの位置まで浸漬し乾燥させる。

この状態でグルコースオキシダーゼは上記第1の感応部14と対向する電極表面のゲル層に付着する。

乾燥後、上記電極を10%グルタルアルデヒド溶液に約15分間浸漬すればグルコースオキシダーゼ層16が固定化され、同第1図に示すグルコース、酸素感応電極1を得る。

この電極1の径は0.2mm程度である。

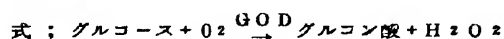
また、この電極1は第2図に示すような容器20の先端部に挿入されて補強される。この容器20はその先端が生体の血管などに挿入し易いように注射針状をなし、かつその側面に開口部21を形成し、この開口部21より電極1の側面をのぞかせている。またこの電極1の露出面は上記第1、第2の感応部14、15が位置する部分である。

このように構成された電極1を用いて血液中の

グルコース濃度を測定するには上記容器20を血管中に挿入し、各カソード2, 3とアノード4間に電圧を印加することによりポーラログラフ的に行われる。

この場合、血液に含まれるグルコースおよび糖原酸素は、容器20の開口部21から、電極1の露出面に接触し、その表面の固定化酵素膜7を透過する。

この時この膜7に形成されたグルコースオキシダーゼ層16を透過するグルコースは第3図に拡大して示すようにグルコースオキシダーゼGODの酵素作用および共存する酸素により酸化され、当量的にグルコン酸と過酸化水素を生成し、酸素を消費する。



この各生成物は酸素透過性隔膜7を透過せず、上記反応に関与しない酸素のみが電極1内に取入れられ、この酸素はグルコースオキシダーゼ層16と対向位置する第1の感応部14に接触し、ここに位置するカソード2とアノード4間でその濃

度が電流値の変化となつて検出される。

他方第2の感応部15には血液中の初期濃度の酸素が接触し、ここに位置するカソード3とアノード4間でその濃度が検出される。

従つて、上記各電極間で検出した初期酸素濃度と反応後の酸素濃度の差はグルコース濃度と当量関係にあるからこれを求めることにより血液中のグルコース量を知ることができる。

なお、上記実施例には、この発明を一層理解し易いように具体的数値を示してあるが、この発明はこれに限定されるものでなく、その測定対象や使用方法などに対応して種々の値を設定できる。

以上説明した如くこの発明に係るグルコース・酸素感応電極は上述する構成により、その電極の径を極めて小さなものとすることができるので、この電極を生体を傷つけることなく血管内に挿入して使用することが可能であるとともに、血管内に挿入するだけで直接血液中のグルコース濃度を測定できるため、従来の血液を採取して前処理操作をした後これを測定する方式に比して、採血の

必要がなく、測定に要する時間が著しく短縮され、しかも連続的測定が可能であるとともに、機器そのものが簡単化、小形化できるなどの種々の利点を有する。

またこの発明にあつては電極本体の側面に感応部を設け、この電極本体をチューブ状の隔膜で被覆するように構成されているから、各電極間の絶縁、電解液の封入隔膜、および酵素の固定などの諸操作が極めて簡単であり、製作が容易であるなどの利点を有する。したがつてこの発明に係るグルコース・酸素感応電極にあつては、実験用または臨床分析などにおける簡易測定用機器として最適である。

4. 図面の簡単な説明

第1図はこの発明に係るグルコース・酸素感応電極の断面図、第2図は同電極を容器内に収容した場合の断面図、第3図は同電極の説明用拡大断面図である。

1 … グルコース・酸素感応電極

2, 3 … 感応電極(カソード)

4 … 隔膜

5 … 膜(固定化酵素膜)

14 … 第1の感応部

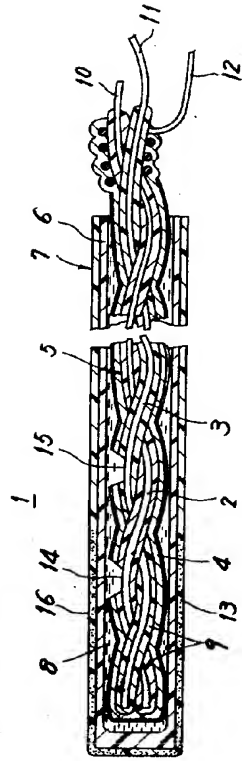
15 … 第2の感応部

16 … グルコースオキシダーゼ(層)

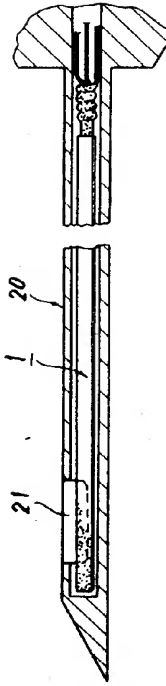
特許出願人 立石電機株式会社

代理人 井理士 和田 成 則

第 1 図



第 2 図



第 3 図

